

Aus dem anatom. Institut der Universität Freiburg i. Br.

Die Veränderung der Zahl der Knochenzellausläufer während der embryonalen Entwicklung

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt der

Hohen medizinischen Fakultät der Albert-Ludwig-Universität
zu Freiburg i. Br.

von

Otto Veit, Zahnarzt

aus Amberg Opf.

A m b e r g 1934

Druck von H. Böes Söhne in Amberg

Dekan: Prof. Kapfhammer.

Referent: Prof. Nauck.

Gedruckt mit Genehmigung der med. Fakultät
der Albert-Ludwig-Universität Freiburg i. Br.



**Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Die Veränderung der Zahl der Knochenzellausläufer während der embryonalen Entwicklung

Einleitung

Beim Vergleich von Präparaten des fertigen mit solchen des sich entwickelnden Knochengewebes hat man häufig den Eindruck, als würde mit fortschreitender histologischer Differenzierung die Zahl der Knochenkanälchen (mitsamt den in ihnen liegenden Zellausläufern) zunehmen. (Zugleich scheint das Einzelkanälchen bzw. dessen Inhalt eine Querschnittsverminderung zu erleiden.) Da im Schrifttum hierüber keine auch nur einigermaßen befriedigende Angabe zu finden war, war es vor allem unsere Aufgabe, nachzuweisen, ob derartige Veränderungen tatsächlich statthaben oder nur durch Schnittdicke-, Richtung oder ähnliche technische Vorgänge bei der Schnittherstellung vorgetäuscht werden. Nachdem sich nun — um das Ergebnis vorwegzunehmen — gezeigt hat, daß die Zahl der Zellfortsätze im Lauf der embryonalen Entwicklung tatsächlich (und zwar um etwa 57 Prozent) zunimmt, ergaben sich einige Ausblicke teils ins Gebiet der Physiologie teils in das der Paläontologie. Gerade letztere ließen es angebracht erscheinen, die Tatsachenbefunde als solche mitzuteilen, um damit einen Ausgangspunkt für etwaige weitere Untersuchungen in der angedeuteten Richtung zu schaffen.

Zur Geschichte der Erforschung der Morphologie des Knochengewebes¹⁾

Die Schwierigkeiten der technischen Behandlung des Knochengewebes für histologische Untersuchungen, begründet in seinem Charakter als Hartschubstanz, wie die zahlreichen Variationen, die es im Lauf der Entwicklung durchmacht, ließen lange Zeit keine einheitlichen Auffassungen selbst über die wichtigsten Fragen seiner Morphologie zustande kommen.

¹⁾ Der Rückblick stützt sich im Wesentlichen auf Angaben Weidenreichs und Broesikes.

Die Erkenntnis der Zellnatur der sogen. Knochenkörperchen und ihrer Ausläufer geht bis zum Jahre 1841 zurück. Bis zu jener Zeit, da *Brun s* behauptete, daß in diesen mikroskopischen Hohlräumen ein flüssiges plasmatisches Ernährungsmaterial für den Knochen vorhanden sei, war die Lehre *Joh. Müllers*, die Knochenhöhlen und Kanälchen seien „*chalicophori*“, mit Kalk gefüllt, beherrschend gewesen. Eine Ueberleitung zur Ansicht *Brun s*' gab *Treviranus* (1835), indem er aussagte, Lakunen und Kanälchen wären mit Flüssigkeit gefüllt. Die Behauptung *Brun s*' wurde dann (1848) durch Injektionsversuche von *Gerlach* eingehender begründet. So rückte die Plasmatheorie in den Vordergrund und es bedurfte nur noch der Beobachtung von Zellkernen, um schließlich zur zellularen Theorie zu gelangen. 1841 schon hatte *G. H. Mayer* in eindeutiger Weise kernhaltige Zellen im Knochen und Zement von Pferde Zähnen beschrieben. Zur selben Zeit beobachteten nach *Koelliker* auch *Schwann*, *Krause*, *Kohlrausch* und *Fleischmann* bisweilen Kerne in den Knochenlakunen. *Mayer* wie *Donders*, der seit 1848 kernhaltige Zellen nach Quellung der Knochengrundsubstanz (durch Behandlung mit Kalilauge und H_2O) darstellte, haben als Begründer der Lehre von der zelligen Natur der Knochenkörperchen zu gelten, die schließlich (1850) durch die fundamentale Entdeckung *Virchows* zur Wirklichkeit wurde: *Virchow* glückte es, durch HCl -Behandlung des Knochens eine Isolation der kernhaltigen Knochenkörperchen¹⁾ mitsamt den anastomosierenden Ausläufern zustande zu bringen. Trotzdem glaubte *Klebs* noch 1868, daß die Lakunen nach vollständiger Consolidierung der Grundsubstanz nicht mit Plasma, sondern mit Gas (CO_2) ausgefüllt seien (ausgenommen die Ossifikationszonen und fötale Knochen). Auch *Leydig* (1857) meinte, im Brustbein des Reihers luftgefüllte Zellen gesehen zu haben. Doch wurde *Virchows* Entdeckung durch *Rouget*, *Neumann*, *Beale*, *Koelliker*, *Broesike* bald als zutreffend bestätigt und für die Zukunft sichergestellt.

Ebenso heiß umstritten, wie die Natur der Knochenzelle selbst, war und ist heute noch die der sie umhüllenden sogen. Knochenkapsel oder Grenzscheide: Wie erwähnt, gelang es zuerst *Virchow*, die „Knochenkörperchen“ + Ausläufer zu isolieren. Während er selbst aber diese Gebilde als die Knochenzellen mit eigener Wandung betrachtete, bewiesen *Rouget* und *Neumann*, daß es sich bei dieser Wandung nicht um die Zellmembran handle, sondern um die die Zelle zunächst umgebende Schicht der Grundsubstanz; *Koelliker* (1889), *Ranvier*, *Rollet*, *Orth* schlossen sich dieser Anschauung an. *Broesike*,

²⁾ S. w. u.

der sich wohl am eingehendsten mit diesen Gebilden beschäftigt hat, ist selbst zu keinem klaren Urteil gelangt. Ihm gelang die Isolierung der „Grenzcheiden“ am besten an einem 200 Jahre alten menschlichen Schienbein. Er fand die Grenzcheiden scharf von der Grundsubstanz abgesetzt und von fast ganz starrer Beschaffenheit. Er sprach die Vermutung aus, daß es sich um Hornsubstanz handle, doch wurde von Smith bewiesen, daß es sich nicht um eine solche handeln könne. Während sich Zachariades (1889) darauf beschränkte, die Grenzscheide als stark lichtbrechende Membran zu bezeichnen, glaubten Spuler (1898) und Retterer (1906) an eine elastische Natur derselben; Weidenreich spricht ihr diese ab (1930). Einen anderen Standpunkt nimmt, wie seinerzeit v. Ebner, heute Schaffer ein. Er hält die „Grenzscheide“ für nicht fibrillär differenzierte, präkollagene Substanz, die im Lauf der Entwicklung chemische Veränderungen eingehe und so zu einer widerstandsfähigen Umkleidung der Knochenzelle würde. Die neuesten Untersuchungen Weidenreichs (1930) mit der Gram-Weigertschen Färbung ergeben, daß die Struktur der Grenzscheide ebenso fibrillär sei, wie die der übrigen Grundsubstanz. Daß die Auskleidung der Havers'schen Kanäle die gleichen Besonderheiten zeigt, wie die der Lakunen und Kanälchen, ist ausnahmslose Ueberzeugung aller Autoren.

Geklärt sind diese Besonderheiten jedenfalls noch nicht ganz, und ich möchte hier noch die Auffassung Broesikes wiedergeben: Der Knorpelkapsel ist die Knochenkapsel (Lakunen- und Kanälchenwandung) nicht gleichzusetzen, denn sie ist kein Ausscheidungsprodukt der Zellen, sondern entsteht durch Umwandlung der innersten Grundsubstanzschicht oder durch einen Wandniederschlag aus der Höhlenflüssigkeit; ich verweise in diesem Zusammenhang auf die später erwähnten neuesten Forschungsergebnisse über die Grundsubstanzbildung durch Fermentwirkung. Vielleicht läßt sich noch unter diesem Gesichtswinkel in dieser Frage Klarheit schaffen.

Was nun die Ausläufer der einzelnen Zellen betrifft, so steht, entgegen der Ansicht Röses, zunächst fest, daß sie überhaupt vorhanden sind (Zachariades, Spuler und Bast). Sie sind plasmatischer Natur und, wie die Zelle selbst, reich an Granulationen (Bast 1921). Ihre Aufgabe besteht sicher darin, den Stoffwechsel der Zellen zu garantieren (Koelliker 1889, Schieferdecker 1891). Hierfür sprechen die teilweisen Anastomosen und die Einmündungen in die die Blutgefäße führenden Havers'schen Kanäle. So ist der radiäre Verlauf der Fortsätze in den einzelnen zylindrischen Systemen vom Standpunkt des Stoffwechsels zu erklären, da er den schnellsten und sichersten Stoffaustausch zwischen den im Zentrum liegenden

Blutgefäßen und den peripher dazu angeordneten Zellen gewährleistet. Bei Degeneration aus irgendwelchem Grunde, wie z. B. Zirkulationsstörungen, sterben auch tatsächlich die von den Kanälchen am entferntesten liegenden Zellen zuerst ab. Ob die bei den jeweiligen Untersuchungen leer erscheinenden Knochenkanälchen am lebenden Gewebe wirklich leer sind, ist schwer zu entscheiden, da die Knochenzellen und ihre Ausläufer durch das ausgiebige Drainagesystem den bei der Entkalkung verwandten Säuren sehr leicht zugänglich sind, viel leichter als die z. B. im Zentrum eines Knochenbälkchens bzw. einer Lamelle liegende Grundsubstanz. Auf diese Schrumpfungsmöglichkeit weisen Schaffer (1922), Weidenreich (1930) u. a. ausdrücklich hin.

Jedenfalls führen alle Kanälchen analog ihrer Bezeichnung als „primäre Aussparungen“ ursprünglich einen Osteocytenfortsatz — wo nie ein Fortsatz lag, ist auch später kein leeres Kanälchen zu finden. —

Was die zahlenmäßige Veränderung der Ausläufer anlangt, so konnten systematische Untersuchungen hierüber in der Literatur nirgends gefunden werden und nur sehr selten werden diesbezügliche Einzelangaben gemacht. Selbst Weidenreich schreibt in seiner gewiß ausführlichen Abhandlung über das Knochengewebe in v. Möllendorffs Handbuch der mikroskopischen Anatomie nur folgende kurze Bemerkung: „Größe, Form und Zahl der Zellen, ebenso wie Anzahl und Verbreitungsart der Fortsätze sind je nach dem Charakter der Grundsubstanz verschieden, so daß sich allgemein gültige Angaben nicht machen lassen.“ — Die genauesten Angaben macht Deinek a. Er schrieb 1914: „Das sichtbare Zeichen der Umwandlung der Osteoblasten in die Knochenzellen stellt auch das Auftreten von charakteristischen, stark verzweigten, langen Fortsätzen dar, welche bei den erwachsenen Knochenzellen eine sehr starke Entwicklung erlangen.“

An anderer Stelle: „Die vollkommen entwickelte Knochenzelle hat auf dem Schnitt durchschnittlich 20 bis 30 Fortsätze, während bei den Osteoblasten ihre Zahl 5 bis 6 nicht überschreitet. Wenn auch diese Fortsätze sich in solche der Osteocyten umwandeln, so wird der größte Teil der letzteren neu gebildet.“

Eine sehr allgemeine Aussage macht R. Maier, der fand, daß in der äußersten Lage der Außentafel des kindlichen Stirnbeins die Knochenkörperchen oft recht arm an Kanälchen seien. Er hatte sogar verschiedentlich, sowohl bei längs- wie quergeschnittenen Knochenkörperchen, den Eindruck, daß noch gar keine Kanälchen ausgebildet seien. Auch T. H. Bast beobachtete, daß an sehr jungen rundlichen, den Osteoblasten sehr ähnlichen Zellen die Fortsätze sehr kurz sind; bisweilen sogar fehlen,

während ältere Zellen deutlich sehr zahlreiche Ausläufer besitzen. Petersen findet, daß die Knochenzellen nicht viel von anderen Mesenchymzellen verschieden seien, er meint, daß sie als solche auch nach Bildung der Grundsubstanz noch neue Fortsätze entwickeln und neue Kanälchen durch die Grundsubstanz bohren. Damit spricht Petersen der Knochenzelle einen lebhaften Stoffwechsel zu und stimmt darin mit Weidenreich überein, der die Anwesenheit von Granulationen, Vakuolen, lipoiden Substanzen und Fett in eben diesem Sinne deutet. Im Gegensatz dazu stehen Schaffer und Broesike, die beide fettige Degeneration mit Schrumpfen der Fortsätze an älteren Zellen beobachteten. Jordan wieder behauptet, daß die cytoplasmatischen Fortsätze im neu gebildeten Knochen zahlreicher seien als im älteren.

Man sieht, über das Verhalten der Fortsätze der Osteocyten gehen die Auffassungen heute noch erheblich auseinander. Der Grund dafür liegt im Mangel systematischer Untersuchungen.

Eigene Untersuchungen

Bei den Untersuchungen, über die im folgenden zu berichten ist, handelt es sich um Feststellungen am bindegewebig und am knorpelig präformierten Knochen, nämlich mandibula, ulna, radius menschlicher Embryonen von 10,5 bis 12,5 und 22 mm Sch.-St.-Länge (Fixation Susa); ferner mandibula vom menschlichen Embryo 24,5 cm Sch.-St.-Länge, und Femur vom Erwachsenen (Fixation Formol).

Nach Entkalkung in fünfprozentiger Salpetersäure und Behandlung mit Methylbenzoat-Benzol, wurden Paraffinschnitte von von 10 μ Dicke in Thionin-Pikrinsäure gefärbt. Das gleiche Material wurde zur Fibrillenfärbung nach der von Weidenreich modifizierten Weigertschen Fibrinfärbung mit Anilinwasser-Centiana-violett verwandt. — Zum Fettnachweis wurden 15 $\mu = \frac{1}{1000}$ mm dicke Gefrierschnitte mit Sudan III gefärbt. Das hierzu verwandte Material bestand in femora menschlicher Embryonen von 15, 17, 24 cm Sch.-St.-Länge und vom Erwachsenen (Fixation Formol).

Gezählt wurden unter dauernder Bewegung der Mikrometerschraube, um möglichst alle in den verschiedenen Ebenen des Schnittes liegenden Fortsätze zu erfassen. Unter Rücksicht auf die örtlich verschiedenen Ernährungsverhältnisse wurden jeweils die in der periost.Knochenschicht liegenden Zellen getrennt von den in den zentralen Knochenbälkchen liegenden Zellen beobachtet.

Im ganzen habe ich die Fortsätze an 764 Zellen gezählt. Nachfolgend gebe ich eine tabellarische Uebersicht über die Ergebnisse meiner Zählungen.

Tabellarische Uebersicht über die Zählungen

Objekt	Scheitel- Steißlänge in cm	Zentral			Periostal		
		Zahl d. Zellen	Zahl d. Fortsätze	Durch- schnitt	Zahl d. Zellen	Zahl d. Fortsätze	Durch- schnitt
Mandibula	10,5	37	386	10	60	561	9
	12,5	23	179	8	46	397	9
	22	31	389	13	38	386	10
	24,5	22	331	15	38	470	12
Ulna und Radius	10,5	18	172	10	29	230	8
	12,5	46	519	11	49	453	9
	22	35	349	10	45	478	11
Femur	10,5	45	525	12	56	579	10
	12,5	6	65	11	33	394	12
	22	62	682	11	62	618	12
Femur	Erwachsener	längs			quer		
		20	481	24	13	217	16

Die gefundenen Zahlenwerte sind nur im Verhältnis zueinander zu betrachten. Da alle Schnitte 10 μ dick sind und beim Färben aller Schnitte die gleichen Zeiten eingehalten wurden, sind die Fehlerquellen nach Möglichkeit verringert. Ob in jedem der Kanälchen (man mußte sich bei der Zählung an diese halten) auch wirklich ein Ausläufer war oder nicht, dürfte auf Grund folgender Erwägung als unwesentlich erscheinen: In dem jeweiligen Altersstadium des Skelettstückes waren soundsoviele Kanälchen angelegt. Ein Kanälchen kann nur dort entstanden sein, wo sich um einen Ausläufer Grundsubstanz ablagerte oder wo (nach Petersen) sich ein Ausläufer in die Grundsubstanz gebohrt hatte.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, tritt bei zunehmendem Alter des Skelettstückes eine zahlenmäßige Zunahme der Ausläufer vor allem der „periostalen“ Zellen ein. In ein und dem-

selben Skelettstück liegen nebeneinander sehr verschieden alte Gewebsbezirke, über die sich meine Zählungen wahllos erstreckten, so daß ich zur Feststellung von Durchschnittswerten kommen

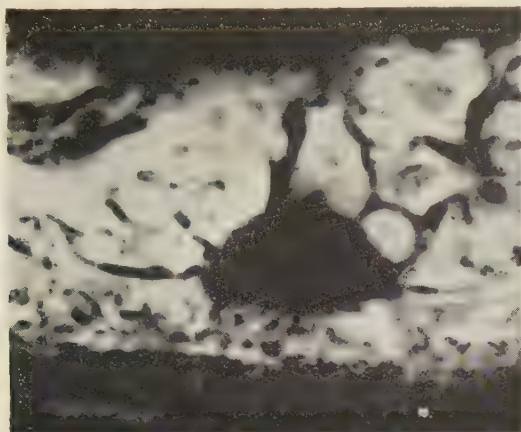


Abb. 1. Schnitt durch Femur eines menschlichen Embryo von 12,5 cm Schädel-Steiß-Länge. Polygonale Form des Zelleibes; geringe Zahl von Ausläufern.

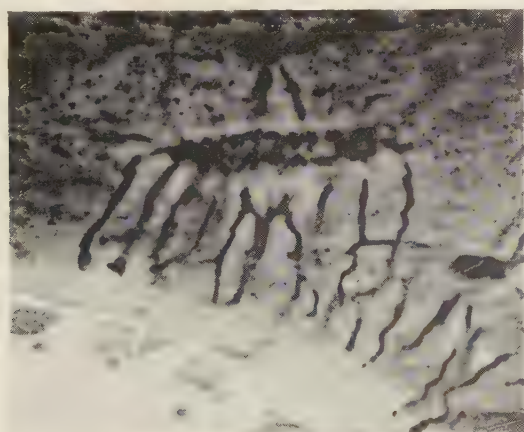


Abb. 2. Schniti durch Femur eines menschl. Embryo von 22 cm Sch.-St.-L. Längs und quer getroffener Osteocyt mit zahlreichen Zellfortsätzen. „Zwetschgenkernform“ des Zelleibes. Granulationen auch in den Ausläufern der Zelle zu erkennen.

mußte, wobei das Alter des Skelettstückes nur einen Anhaltspunkt, keinen absoluten Maßstab für die Alterseinstufung der Einzelzelle bot. Immerhin sind auf jeder neuen Altersstufe

sowiele neue Zellen gegenüber der vorhergehenden aufgetreten, daß hierdurch die Durchschnittszahlen merklich ansteigen. Der Versuch, eine genauere Feststellung an neu entstandenen Knochengebieten zu machen, war deshalb erfolglos, weil in den jungen Entwicklungszuständen das appositionelle Wachstum sich durchaus nicht streng etwa auf die periostalen Schichten beschränkt. Kam es uns auch nur auf den grundsätzlichen Nachweis einer Zunahme der Zahl der Zellfortsätze an, so soll doch hier der Hinweis auf die Möglichkeit noch genauerer Erhebungen gemacht werden — sie dürften mit der Methode der Krappfütterung durchzuführen sein, die wir jedoch aus äußeren Gründen nicht zur Anwendung bringen konnten.

Uebrigens haben in den einzelnen Knochenbälkchen die zentralen, von relativ viel Grundsubstanz umgebenen Zellen durchschnittlich um zwei Ausläufer mehr, als die am Rande gelegenen Zellen. Eine Tatsache, die vielleicht mit erschwerten Ernährungsverhältnissen oder mit dem vermehrten Vorhandensein von Grundsubstanz zusammenhängt.

Zwischen längs und quer getroffenen Zellen habe ich in der Ausläuferzahl Differenzen bis zu 100 Prozent beobachtet; doch ist es fast unmöglich, in den embryonalen Stadien klar zwischen längs und quer getroffenen Zellen zu unterscheiden, da deren Formen mehr kugelig und polygonal sind. Besonders gilt das für die Zellen des grobgebündelten Unterkieferknochens. —

Die Fettfärbung zeigt beim Embryo von 15 cm keine Speicherung, bei 17 cm Länge tritt Speicherung häufiger auf, ist aber meist nur am Rande der Zelle zu erkennen; selten ist eine ganze Zelle oder Lakune verfettet (Abb. 3). Bei 24 cm (Abb. 4) ist die Speicherung auf einzelne wenige Zonen beschränkt. Wieder anders das Bild vom Erwachsenen (Abb. 5): hier sehen wir große Zellgebiete vollkommen frei von Fett. Dazwischen wieder kleinere Lamellenbezirke, in denen fast sämtliche Zellen, ja sogar Kanälchen ganz mit Fett vollgepfropft sind. Einen Unterschied zwischen Haupt- und Schaltlamellen konnte ich dabei nicht beobachten.

Deutung der Befunde

Wir können eine biologische Deutung der erhobenen Befunde nur vermutungsweise versuchen. Zunächst müssen die verschiedenen Auffassungen, wie sie heute über den Stoffwechsel der Knochenzelle bestehen, kurz angeführt werden. Wie das Knochengewebe allgemein ein Differenzierungsergebnis darstellt, ist auch die Knochenzelle im besonderen ein Differenzierungsprodukt des



Abb. 3

Querschnitt durch Femur eines menschl. Embryo von 17 cm Sch.-St.-L. Häufiger auftretende geringe Fettspeicherung, aber meist nur am Rande der Zelle zu erkennen.



Abb. 4

Querschnitt durch Femur eines menschlichen Embryo von 24 cm Sch.-St.-L. Fettspeicherung auf einzelne Zonen beschränkt.



Abb. 5

Querschnitt durch Femur eines erwachsenen Menschen. Große Lamellenbezirke frei von Fett. Dazwischen einzelne vollkommen verfettete Haupt- und Schaltlamellen.

Mesenchyms: sie ist nach Wassermann eine dauernde, d. h. wenn einmal gebildete, zugleich mit der Funktion aufrecht erhaltene Struktur. Sie stellt die materielle Grundlage für gewisse Leistungen dar.

Pollicard beobachtete häufige Fett- und Lipoidspeicherung in den Osteocyten und schloß daraus auf einen trägen Stoffwechsel derselben, während Weidenreich gerade in diesen Einschlüssen und in den Granulationen im Protoplasma, die auch ich sehr häufig selbst in den Zellausläufern noch beobachten konnte (Abb. 2), ein Zeichen regen Stoffwechsels sieht. Heitzmann behauptete, in sternförmigen, durch Ausläufer miteinander verbundenen Zellen durch Entzündungsreize Kernteilungsvorgänge erzeugt zu haben, und glaubte außerdem an die Produktion roter Blutkörperchen und von Blutgefäßen durch die Zellen des entzündeten Knochens. Hier interessiert nur, daß Heitzmann offenbar den Osteocyten während der ganzen Lebensdauer eine große Vitalität zuschrieb. Neuerdings sprachen Veröffentlichungen von Bast (1924), Petersen (1924) und Walther Müller (1926) durchaus für einen regen Stoffwechsel der Knochenzellen. Bast beobachtete am injizierten Knochen Phagocytose von Tusche-Körnern, Petersen bezweifelt, ob jederzeit alle Kanälchen ganz von Zellausläufern eingenommen sind und glaubt, daß die Osteocyten wie die Mesenchymzellen eine gewisse Beweglichkeit besitzen und Verbindungen untereinander lösen und neu bilden können, ohne jedoch hierfür direkte Beobachtungen anzuführen. Walther Müller sieht die Knochenzellen selbst sehr alter und decrepider Menschen noch im innigen biologischen Zusammenhang mit dem Blutgefäßsystem. Bei schweren Arteriosklerosen fand er die Zellen in der Nähe der Havers'schen Kanälchen und die in den feinen Knochenbälkchen kernhaltig, während die von Blutgefäßen entfernter liegenden Zellen, insbesondere die der Schaltlamellen, kernlos waren, woraus er wohl mit Recht auf deren Lebensuntüchtigkeit schließt.

Die sichersten Rückschlüsse auf den Stoffwechsel der Knochenzellen würde eine geeignete Vitalfärbung zulassen. Leider gibt uns die Krapp-Färbung, die gebräuchlichste Knochenvitalfärbung, nur über grobe Zustandsveränderungen der Grundsubstanz Aufschluß, da das Alizarin nicht an den Zellen sondern nur an der Grundsubstanz bzw. deren Kalksalzen haftet.

Dagegen konnte Arnold (1877) zitiert nach v. Möllendorff mit indigschwefelsaurem Natron Anzeichen einer Saftströmung in der Knochensubstanz nachweisen, wobei teils in der Umgebung der Gefäße, teils auf dem Wege der Knochenkanälchen und der Knochenkörperchen Farbstoffniederschläge gefunden wurden. R. Lotzin (1922), der sich mit der Vitalfärbung des Knorpelgewebes beschäftigte, beobachtete, daß

die Osteoblasten Trypanblau speichern und sich unter der Wirkung der vitalen Färbung in diesem Zustand in die Grundsubstanz einmauern. Er fand alle Zwischenstufen vom Osteoblasten bis zum zierlichen Osteocyten vital gefärbt. Beim fertig ausgebildeten Knochen scheint ihm die Vitalfärbung vom Gefäßsystem der Havers'schen Kanäle aus nach außen fortzuschreiten. Sicher darf man aus diesen, wenn auch vereinzelter Beobachtungen vermittelt der Vitalfärbung auf einen regen Stoffwechsel selbst im ausdifferenzierten Knochengewebe schließen, und zwar eben auf der Bahn der protoplasmatischen Anastomosen der Osteocyten.

Ganz ungeklärt war bis vor kurzem noch die Bedeutung der Osteocyten bei der Grundsubstanzbildung. Policard betrachtet die Grundsubstanzbildung in der Hauptsache als einen humoralen, von Zellen unabhängigen Vorgang, spricht aber doch die vage Vermutung einer Fermentlieferung aus. Für die meisten Forscher galt wohl der von Schaffer (1916) geprägte Satz: Knochengewebe wird immer und überall auf dieselbe Weise, nämlich durch spezifische Knochenbildungszellen, die Osteoblasten Gegenbaur's, erzeugt. Vor ihm schrieb Broesike (1882): Die Bestimmung der Zellkörper des Knochens besteht offenbar nur in der Bildung der Knochengrundsubstanz — nachdem sie dieselbe erfüllt haben, sind ihre vitalen Funktionen kürzere oder längere Zeit nur auf ihre eigene Erhaltung gerichtet, bis sie in diesem Zustand der Inaktivität allmählich der Degeneration und schließlich dem völligen Untergang anheim fallen. Erst durch die Untersuchungen von Robison und die seiner Mitarbeiter einerseits und die von Zawisch-Ossenitz andererseits scheint nunmehr Klarheit in der Frage der Grundsubstanzbildung geschaffen, zum mindesten aber angebahnt zu sein. Schon 1907 hat Morpurgo auf Grund von Autolyseversuchen am Knochen ein kalksalzlösendes Ferment vermutet und zugleich erklärt, daß der durch die Osteocyten bewirkte Kalzifikationsprozeß keinen Widerspruch gegen die Hypothese eines dekalzinierenden Ferments darstelle, da auch in anderen Geweben die gleichen Elemente Synthese und Analyse bewirkten.

Robison und Mitarbeiter haben 1925 aus dem wässrigen Extrakt zermahlener Knochen, verknöchernden Knorpels und von Zähnen junger, wachsender Tiere ein Ferment, eine Hexosemonophosphatase ausgesondert, und durch Laboratoriumsversuche im Reagensglas bewiesen, daß dieses Ferment aus hexosemonophosphorsäuren und glycerophosphorsäuren Salzen die Phosphat-Ionen freimacht. Das Substrat des Ferments ist ein an die Erythrocyten gebundener Hexosemonophosphatester, welcher im rhachitischen Knochen nicht vorhanden ist. Nun haben Robison und Mitarbeiter Schnitte rhachitischer Knochen

in Lösungen von Calciumhexosemonophosphat und glycerphosphat eingelegt und beobachtet, daß die Wirkungsstätten des Ferments die großblasigen Knorpelzellen und die Knochenzellen der Ossifikationszonen sind, da sich in deren unmittelbarer Nähe Kalk niedergeschlagen hatte. Carla Zawisch-Ossenitz vermutete in Analogie zu dem Robison'schen Ferment, dessen Wirkung sich auf die anorganische Komponente des Knochens erstreckt, ein Ferment, das die Bildung der organischen Grundsubstanz beeinflussen könnte. Sie injizierte Tieren den nach der Robison'schen Methode gewonnenen Extrakt, und beobachtete erst makroskopisch ein gesteigertes Längenwachstum der Knochen (für den Unterschenkel des Kaninchens z. B. 0,5 cm gegenüber den wurfgleichen Kontrolltieren); mikroskopisch zeigte sich an den Knochen dieser Tiere 1. eine quantitativ und qualitative Ueberlegenheit gegenüber den Kontrolltieren und 2. als Ursache dieser Erscheinungen eine erhöhte Zellvitalität, die sich in einer Vermehrung und Vergrößerung der Knochenzellen und einer Verschiebung der Kernplasmarelation zugunsten des Kernes äußerte.

Anscheinend handelt es sich hier also um ein Ferment, das in intimum Verhältnis zu den Zellen der Ossifikationszonen steht. Ich schreibe bewußt „Zellen der Ossifikationszone“ und nicht Osteocyten oder Osteoblasten. Der von Schaffer (1916) geprägte, oben zitierte Satz erscheint, wenn man die Bezeichnung Osteoblast nicht auch auf schon in Knochengrundsubstanz eingeschlossene Zellen ausdehnen will, demnach doch etwas zu speziell; abgesehen davon, daß er über die Art und Weise der Knochensubstanzbildung überhaupt nichts aussagt, nämlich ob es sich um eine exoplasmatische Umwandlung der Zellen in Grundsubstanz oder um eine Grundsubstanzbildung unter fermentativer Einwirkung oder als direktes Sekret der Osteoblasten handelt. Rein formal ist die Unterscheidung zwischen Osteoblast als der am Rande des Knochens und Osteocyt als der in die Grundsubstanz eingebetteten Zelle üblich. Ob diese Gegenüberstellung vom physiologischen Standpunkt aus auch berechtigt ist, erscheint nach den oben genannten Untersuchungen zumindest zweifelhaft.

Broesike hält sich schon 1889 nicht mehr so eng an die Anschauung, daß allein die von Gegenbaur 1864 entdeckten Osteoblasten Bildner der Knocheninterzellularsubstanz wären. Er ist, wie oben schon erwähnt, der Ansicht, es sei offenbar Bestimmung der Zellen des Knochens, also der Osteocyten, die Grundsubstanz zu bilden; und die Untersuchungen von Robison und Mitarbeitern wie von Carla Zawisch-Ossenitz scheinen das neuerdings zu rechtfertigen. Wenn man allerdings als „Osteoblasten“ auch die im noch nicht vollkommen ausgebildeten Knochen liegenden Osteocyten bezeichnen

würde, so wäre gegen die Darstellung Schaffers nicht viel einzuwenden, doch ist eine derartige Definition des Begriffes „Osteoblast“ aus den Veröffentlichungen der einzelnen Autoren nicht zu erkennen. Ebenso wenig klar ist die Feststellung, daß die „älteren“ Knochenzellen ihre Ausläufer zum Teil verlieren und schrumpfen. Bezieht sich das „älter“ nur auf jene Zellen des höchst differenzierten lamellären Knochens oder auch auf die Zellen sich noch entwickelnder jugendlicher oder gar embryonaler Gewebe? —

Soweit die Ansichten über die Biologie der Knochenzelle. Wir können uns jetzt dem Versuche der Deutung der Zellausläuferzunahme zuwenden.

Die von mir in den verschiedenen embryonalen Altersstufen beobachtete Zunahme der Zellausläufer ist wohl als, mit der Funktion in Beziehung stehende, Differenzierung der Osteoblasten bzw. Osteocyten anzusehen. Wenn man die Länge der Ausläufer im Verhältnis zum relativ viel kleineren Querdurchmesser eines längsgetroffenen Osteocyten bedenkt, so erscheint mir die Annahme naheliegend, es würde eine Oberflächenvergrößerung der ganzen Zelle erreicht durch die Vermehrung der Ausläufer um rund 57 Prozent. Jedenfalls steht diese Annahme im Einklang mit der von Carla Z.-Ossenitz beobachteten Vergrößerung der Zelle (wenn hierbei auch die Oberflächenvergrößerung geringer ist als bei einer Zunahme der Ausläuferzahl) und würde in ihrem Sinne so auszulegen sein, daß wenigstens während der embryonalen Entwicklung des Knochengewebes in gesteigertem Maße Ferment geliefert wird mit dem Erfolge einer weiteren Differenzierung der Grundsubstanz. Daß diese beim Embryo von 24,5 cm noch keineswegs beendet ist, ist allein schon aus der Fibrillenfärbung zu erkennen: Die einzelnen Fibrillenbündel liegen wirr durchflochten, lassen also eine Schichtung im Sinne der Lamellenbildung keineswegs erkennen.

Die Vermehrung der Knochenzellausläufer mag so der Ausdruck für eine Steigerung, mindestens aber der Beibehaltung der ursprünglichen Stoffwechselfunktion sein. Durch die sich um die Zelle herum entwickelnde Grundsubstanz tritt sicher eine Verschlechterung der Lebensbedingungen dieser Grundsubstanz ein, sie könnte durch die Oberflächenvergrößerung der Zelle wieder ausgeglichen werden, bis das Gewebe schließlich ausdifferenziert ist und sich damit die Anforderungen an die Zellen von seiten der Grundsubstanz verringern. Ich erinnere in diesem Zusammenhang nochmals an die Beobachtung größerer Ausläuferzahl bei den in viel Grundsubstanz eingebetteten Osteocyten. Es ist aber auch die andere Möglichkeit ins Auge zu fassen: Die Zahl der Osteocytenausläufer bedeutet die Zahl der Zufuhrwege der Nahrungsmittel zur Einzelzelle, eine Vermehrung kann also mit

einer Verbesserung bzw. dem Aufrechterhalten gegebener Ernährungsbedingungen Hand in Hand gehen. Von diesem Gesichtspunkt aus dürften auch die oben erwähnten Befunde von W. Müller verständlich werden. Auch die Fettfärbung weist auf einen in den einzelnen Entwicklungsstadien recht verschiedenen Stoffwechsel hin. Leider konnte ich zu diesen Untersuchungen nicht dasselbe Material verwenden, wie zu den Zählungen (Behandlung der Paraffinschnitte mit fettlösenden Mitteln).

Die hier versuchte Deutung des funktionellen Wertes der Vermehrung der Osteocytenfortsätze bedarf der Kontrolle durch physiologische Versuche. Solche auszuführen überschreitet den Rahmen unserer besonderen Aufgabe.

Einen Ausblick eröffnen unsere beschreibenden Ergebnisse ins Gebiet der Paläontologie¹⁾. Wenn es sich erweisen sollte, — wir zweifeln nicht, daß weitere Untersuchungen das zeigen werden — daß die Zunahme der Zahl der Osteocytenfortsätze während der Entwicklung eine weitverbreitete, vielleicht gar eine allgemein fürs Knochengewebe zutreffende Eigenschaft ist, so können in gewissen Grenzen Altersdiagnosen fossiler Knochen gestellt werden, zumal nach den Befunden von Deinek a diese Zahlen auch im postembryonalen Alter nicht unerheblich zunehmen dürften. Das kann vielfach von großer Bedeutung sein, besonders dann, wenn Knochenbruchstücke zur genaueren Bestimmung vorliegen. Artdiagnosen erwachsener Formen sind an Hand der Zellgestalt bekanntlich durchaus möglich, über die Altersunterschiede dagegen konnte ich im einschlägigen Schrifttum nichts finden, und auch die Paläontologen Prof. Schindewolf und Dr. Groß (beide in Berlin) vermochten mir keine positiven Hinweise zu geben.²⁾ Wir vermuten sogar, daß sich hier möglicherweise ein Weg zur Erforschung der Paläo-Embryologie eröffnet. Das sind Ziele, deren Erreichung (wenn überhaupt möglich) mit der angedeuteten Methode allerdings noch sehr zahlreicher Vorarbeiten bedarf; diese hätten sich in zwei Richtungen zu erstrecken: 1. Der Nachweis artlicher usw. Unterschiede in der Zahl der Osteocytenfortsätze und 2. der Nachweis von Unterschieden zwischen den Skeletstücken bzw. der Knochengewebsart beim gleichen Einzelwesen sind als erstes zu führen. Das Ergebnis solcher Untersuchungen muß zeigen, ob die Altersdiagnose des Knochengewebes allgemein auf Grund der Zahl der Knochenkanälchen gestellt werden kann; außerdem wäre 3. wie schon erwähnt, festzustellen, ob die ontogenetische Zunahme der Fortsatzzahl eine allgemeingültige Regel dargestellt. — Ein weiterer

¹⁾ Wir denken im besonderen an die Paläo-Anthropologie.

²⁾ Beiden Herren danke ich auch an dieser Stelle für ihre bereitwillig erteilten Auskünfte.

Ausblick ergibt sich in Richtung auf das Gebiet der gerichtlichen Medizin, wo die Erkennung einer bestimmten, seit längerer Zeit ums Leben gekommenen Einzelperson bestimmten Alters sich u. U. auf Befunde am Knochengewebe stützen könnte (Kindsmord).

Zusammenfassung

Die Untersuchung verschiedener Knochen in verschiedenen Altersstadien ergab eindeutig eine Vermehrung der Osteocytenausläufer um rund 55 Prozent bei der Entwicklung des menschlichen Embryo (10,5 bis 24,5 cm Sch.-St.-Länge). Diese Fortsatzvermehrung ist mit einer Oberflächenvergrößerung der Zelle verknüpft, die Hand in Hand mit einer sich steigernden Leistungsfähigkeit geht. Wie die Fibrillenfärbung zeigt, geht eine Weiterdifferenzierung der Grundsubstanz lange Zeit vor sich. Die vermehrten Ausläufer können als Garanten des Stoffwechsels und der Reizleitung unter erschwerten Lebensbedingungen der Zelle aufgefaßt werden. Der Stoffwechsel der Osteocyten ist, wie die Fettfärbung zeigt, in den von mir untersuchten Stadien ein recht verschiedener. Von fettiger Degeneration kann eigentlich nur bei einzelnen Lamellengruppen des erwachsenen Knochens gesprochen werden, wo Lakunen und Kanälchen vollkommen mit Fett ausgefüllt sind, während von den Zellen selbst nichts mehr zu sehen ist. Wir nehmen an, daß mit der Methode der Zählung von Osteocytenfortsätzen u. U. paläo-embryologische Diagnosen gestellt werden könnten; hierzu bedarf es jedenfalls einer weiteren Ausdehnung der Untersuchungen. Auch an eine Verwertbarkeit unserer Befunde für die gerichtliche Medizin ist zu denken.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. E. Th. Naudk meinen herzlichsten Dank aussprechen für die Ueberlassung des Themas, wie für die freundliche Unterstützung, die er mir bei meinen Untersuchungen stets zuteil werden ließ. Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. W. v. Möllendorff zu größtem Dank verpflichtet für Zurverfügungstellung von Material und Werkzeug sowie Arbeitsplatz im Anat. Institut.

Literaturnachweis

- Bast, T. H.: Structure and multiplication of Bone cells. *American Journal of Anatomy* 29 (1931).
- Broesike, G.: Ueber die feinere Struktur des normalen Knochengewebes. *Arch. f. mikros. Anat.* 21 (1882).
- Deinika, D.: Beobachtungen über die Entwicklung des Knochengewebes mittels der Versilberungsmethode. *Anat. Anzeiger* 46 (1914).
- Koelliker, A.: *Handb. d. Gewebelehre des Menschen*. Bd. L. Verlag W. Engelmann, Leipzig 1889.
- Leydig, Franz: *Lehrbuch der Histologie*. Verlag v. Meidinger Sohn u. Comp., Frankfurt/M. 1857.
- Lotzín, R.: Ueber die Bedeutung physikalischer Knorpel-eigenschaften für die Vitalfärbung des Knorpels. *Anat. Anzeiger* Bd. 55 Nr. 16, 17, 1922.
- Mair, R.: Untersuchungen über die Struktur der Schädelknochen. *Zeitschr. f. mikros. anat. Forschung*. Bd. V. *Festschrift für Rud. Fick* (1926).
- Möllendorff, W. v.: Vitale Färbungen an tierischen Zellen. *Verhdlgn. d. anat. Ges.* vom 15.—16. April 1921. *Ergänz. Heft zum Anat. Anzeiger* Bd. 54.
- Müller, Walther: Die Wirkung verminderter Zirkulation auf das Knochengewebe. *Arch. f. klin. Chir., Kongreßbd.* 142.
- Petersen, H.: *Histologie und mikros. Anatomie* 3. Verlag v. J. F. Bergmann, München 1924.
- Policaud, A.: La physiologie de la substance osseuse und Les mécanismes physiologiques fondamentaux de la substance osseuse. *Anat. Bericht* 14. S. 550—51 (1928/29).
- Rupprich, W.: Zur Morphologie der Knochenzelle. *Verhandl. d. Ges. deut. Naturforscher u. Aerzte* 85. Vers. zu Wien, Teil II, 2. Vogel, Leipzig 1914.
- Schaffer, G.: Vorlesungen über Histologie und Histogenese. Abschnitt das Knochengewebe. Leipzig 1920.
- Schieferdecker und Kossel: *Gewebelehre*. Verlag v. H. Bruhn, Braunschweig 1891.
- Spuler, A.: Ueber die Verbindungskanalchen d. Höhlen d. Knochenzellen. *Anat. Anzeiger* 14 (S. 292).
- Wassermann, F.: Differenzierung d. lebendigen Masse in v. Möllendorffs Hb. d. mikros. Anat. d. Menschen I, 2 B. Die Tonofibrillen d. Mesenchyms. Springer, Berlin 1929.
- Weidenreich, F.: Das Knochengewebe in v. Möllendorffs *Handb. der mikros. Anat. d. Menschen* Bd. II 2. Springer, Berlin 1929.
- Zawisch-Ossenitz, C.: Ueber Knochenwachstum und dessen Beeinflussung durch Fermentwirkung. *Zeitschr. f. mikros. anat. Forschung* 25 (1931).
- Zawisch-Ossenitz, C.: Beeinflussung d. Knochenwachstums durch Fermentwirkung. *Zeitschr. f. mikros. anat. Forschung* 26 (1931).

Lebenslauf

Am 20. Februar 1911 zu Plauen i. Vogtl. als Sohn des Dentisten Albert Veit und seiner Ehefrau Anna, geb. Fischer, geboren, besuchte ich von 1917—21 die Vorschule des Lehrerseminars in Amberg Opf. Von 1921—30 besuchte ich daselbst das humanistische Gymnasium, um mich dann in Freiburg, Kiel und Wien dem Studium der Zahnheilkunde zu widmen. Das Physikum bestand ich 1931 in Kiel, das Staatsexamen 1933 in Freiburg i. Br. mit „gut“. Bis April 1934 war ich am anatomischen Institut der Universität Freiburg i. Br. als Hilfsassistent beschäftigt. Zur Zeit bin ich Assistent an der zahnärztlichen Universitäts-Poliklinik Freiburg i. Br.
